

3. Хаяутин В. М., Лукошкова Е. В., Рогоза А. Н., Никольский В. П. Отрицательные обратные связи в патогенезе первичной артериальной гипертензии: механочувствительность эндотелия // Физиол. журн. им. Сеченова. – 1993. – №79, т.8. –С. 1-21.
4. Hu L., Manning R. D., Brands M. W. Long-term cardiovascular role of nitric oxide in conscious rats // Hypertension. – 1994. – V.23, 2. – P.185-194.
5. Vanhoutte P. M., Shepherd J. T. Physiological role of endothelium-dependent responses // 31st Int. Congr. Physiol. Sci., Helsinki, 9-14 July, 1989. - Abstr. Oulu. - 1989. - P.121.

## **ЭНДОТЕЛИЙЗАВИСИМЫЕ МЕХАНИЗМЫ РЕПЕРFUЗИОННЫХ ПОВРЕЖДЕНИЙ ПЕЧЕНИ**

**Ходосовский М.Н., Маслаков Д.А.**

*Государственный медицинский университет, г. Гродно*

Реперфузия органа является необходимым условием восстановления тканей от ишемии, однако, может сопровождаться усугублением повреждений, механизмы которых остаются изученными недостаточно. Эндотелий играет ключевую роль в восстановлении микроциркуляции, а значит и функции ишемизированного органа. Считается, что повреждение эндотелия при холодовой консервации печени является критическим механизмом развития реперфузионных повреждений при трансплантации [Gao W. et al., 1998]. Нарушение сбалансированной продукции вазоконстрикторов и оксида азота (NO) при ишемии-реперфузии может приводить к развитию феномена *no-reflow*, что продлевает гипоксию тканей, переводя обратимые ишемические повреждения в необратимые. Печень является высокочувствительным органом к дефициту O<sub>2</sub>. Даже частичная ишемия органа может привести к дисфункции его в целом [Nakamitsu A. et al., 2001]. Поэтому мы поставили цель – изучить роль NO-синтазной функции эндотелия при неполной тепловой ишемии и последующей реперфузии печени в патогенезе реперфузионного синдрома.

Работа выполнена на взрослых кроликах-самцах весом 3,5-4,5 кг. Анестезия поддерживалась внутривенной инфузией калипсола (1,5 мг/кг/мин). Ишемию печени в течение 30 мин. вызывали наложением лигатуры на а. hepatica propria, реперфузионный период длился 120 мин. Вводили катетеры: один - в v. hepatica для забора печёночной венозной крови, а другой - в правое предсердие для получения смешанной венозной крови. Животные были разделены на 5 групп. В 1-ой группе кроли-

ков ( $n=10$ ) моделировали ишемию-реперфузию печени. Во 2-ой группе ( $n=8$ ) за 5 мин. до начала реперфузии проводили инфузию L-аргинина (300 мг/кг, Институт биоорганической химии НАН РБ). В 3-ей группе ( $n=7$ ) перед выполнением ишемии осуществляли инфузию неселективного ингибитора NO-синтазы -  $N^G$ -нитро-L-аргинина (L-NNA, "Sigma") в дозе 15 мг/кг. В 4-ой ( $n=6$ ) и 5-ой ( $n=5$ ) группах животных брали образцы печени до и непосредственно после выполнения ишемии, соответственно. Забор образцов крови для оценки продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и факторов антиоксидантной системы (АС) осуществляли до, в конце и через 120 мин после прекращения ишемии. У первых трех групп кроликов ткань печени для оценки показателей прооксидантно-антиоксидантного состояния брали в конце реперфузии. Степень повреждения печени оценивали по активности в крови аланин- и аспаратаминотрансфераз (АлАТ и АсАТ, соответственно).

Изучались следующие параметры прооксидантно-антиоксидантного состояния: диеновые конъюгаты (ДК),  $\alpha$ -токоферол и активность каталазы. Содержание ДК в биологическом материале определяли методом ультрафиолетовой спектрофотометрии при длине волны 233 нм, типичной для конъюгированных диеновых структур гидроперекисей липидов. Содержание  $\alpha$ -токоферола изучали по интенсивности флуоресценции гексанового экстракта. В качестве стандарта использовались  $\alpha$ -токоферол фирмы "Sigma". Каталазная активность в биологическом материале оценивалась спектрофотометрическим методом, основанном на способности перекиси водорода ( $H_2O_2$ ) образовывать с солями молибдена стойко окрашенный комплекс. Количество белка определяли по Лоури. Активность АлАТ и АсАТ определяли в крови стандартными биохимическими методами. Статистическую обработку полученных данных проводили методом вариационной статистики с использованием t-критерия Стьюдента.

В 1-ой группе животных ишемия и, особенно, реперфузия печени привели к значительному росту уровня продуктов ПОЛ в обоих образцах крови. Так в плазме крови, оттекающей от печени, содержание ДК увеличилось с  $0,58 \pm 0,05 D_{233}/мл$  (исходный уровень) до  $2,13 \pm 0,1 D_{233}/мл$  ( $p < 0,001$ ) в конце реперфузии. В конце реперфузионного периода уровень  $\alpha$ -токоферола упал в плазме печеночной и смешанной венозной крови на 20,5% и 24,6%, соответственно. Активность каталазы, АлАТ и АсАТ на протяжении ишемии-реперфузии печени возрастала. Инфузия L-аргинина перед началом реперфузионного периода способствовала нормализации показателей прооксидантно-антиоксидантного баланса, а также активности АлАТ и АсАТ в печеночной и смешанной венозной крови. К концу реперфузии в плазме данных образцов крови снизилось содержание  $\alpha$ -токоферола на 7,4% и 7,5%, соответственно. Однако, эти изменения были менее выраженным, чем у животных 1-ой

группы. Использование L-NNA перед началом ишемии привело к росту ДК плазмы в печеночной и смешанной венозной крови на 120 мин. реперфузии по отношению к исходному уровню на 363,5% и 366,1%, соответственно. В плазме печеночной и смешанной венозной крови содержание  $\alpha$ -токоферола к концу реперфузии составляло 81,6% и 90,4%, соответственно. На 120 минуте реперфузии повысилась активность АлАТ и АсАТ в обоих образцах крови. У животных, получавших L-NNA, наблюдалось снижение активности каталазы эритроцитов в конце реперфузионного периода.

30 минут ишемии печени привели к повышению в её тканях уровня ДК с  $4,97 \pm 0,54$  до  $7,8 \pm 0,7 \Delta D_{233}/г$  ( $p < 0,01$ ). В конце реперфузионного периода содержание ДК в гомогенате печени 1-ой группы кроликов по отношению к контролю составило  $11,42 \pm 1,04 \Delta D_{233}/г$  ( $p < 0,01$ ), у получавших L-аргинин животных –  $7,03 \pm 0,78 \Delta D_{233}/г$  ( $p > 0,05$ ), а у животных, которым проводилась инфузия L-NNA, –  $9,66 \pm 0,7 \Delta D_{233}/г$  ( $p < 0,001$ ). В гомогенате печени 1-ой группы и группы животных, получавшей L-NNA, к концу реперфузионного периода установлено уменьшение по отношению к контролю уровня  $\alpha$ -токоферола с  $197,7 \pm 6,8$  нМ/г до  $121,7 \pm 2,6$  ( $p < 0,001$ ) и  $141,4 \pm 10,7$  ( $p < 0,01$ ) нМ/г, соответственно. Активность каталазы в тканях печени на 120 мин. реперфузии у 1-ой группы по отношению к контролю повышалась с  $8,36 \pm 0,56$  мМ/сек\*г белка до  $11,45 \pm 0,35$  мМ/сек\*г белка ( $p < 0,01$ ), в группе с L-аргинином существенно не изменялась, а в группе, получавших L-NNA, снижалась до  $5,85 \pm 0,81$  мМ/сек\*г белка ( $p < 0,05$ ).

Ишемия-реперфузия печени приводила к усилению свободнорадикальных процессов, о чем свидетельствует накопление в крови и гомогенате печени ДК, снижение концентрации  $\alpha$ -токоферола и повышение активности каталазы. Усиление свободнорадикальных процессов способствует развитию повреждений органа, что подтверждается ростом активности АлАТ и АсАТ крови. Ответственным за развитие последних может быть пероксинитрит – продукт взаимодействия  $O_2^{\cdot -}$  с NO, который является мощным окислителем [Петренко Ю.М. и др., 2001]. Известно, что гипоксия и усиление давления сдвига на эндотелий являются стимулами для повышенного синтеза NO. В связи с этим мы применили инфузию L-NNA, однако не получили положительных эффектов. Одновременно, использование L-аргинина в наших опытах способствовало улучшению прооксидантно-антиоксидантного баланса, а также нормализации уровня АлАТ и АсАТ в крови. Возможно, защитное влияние L-аргинина при реперфузии печени связано с нормализацией NO-синтазной функции эндотелия, а также с другими эффектами данной аминокислоты, в том числе с улучшением кислородсвязывающих свойств крови.

### *Литература*

1. Петренко Ю.М., Шашурин Д.А., Титов В.Ю. Новые источники окиси азота и их возможная физиологическая роль // Экспер. и клин. фармакол. – 2001 - №2. - С 72-80.
2. Gao W., Bentley R.C., Madden J.F., Clavien P.A. Apoptosis of sinusoidal endothelial cells is a critical mechanism of preservation injury in rat liver transplantation//Hepatology. –1998.-№6.-P.1652-1660.
3. Nakamitsu A., Hiyama E., Imamura Y., et al. Kupffer cell function in ischemic and nonischemic livers after hepatic partial ischemia/reperfusion//Surg Today.-2001.-№2. -P.140-148.

## **СНИЖЕНИЕ ТОНУСА КОРОНАРНЫХ СОСУДОВ ИЗОЛИРОВАННОГО СЕРДЦА КРЫСЫ ПРИ ЭНДОТОКСИНОВОМ ШОКЕ, ВЫЗВАННОЕ N-АЦЕТИЛЦИСТЕИНОМ**

<sup>1</sup>Цвирко И.А., <sup>1</sup>Беляева Л.Е., <sup>1</sup>Шебеко В.И., <sup>1</sup>Солодков А.П.,  
<sup>2</sup>Манухина Е.Б.

<sup>1</sup>*Государственный медицинский университет, г. Витебск,*  
<sup>2</sup>*НИИ общей патологии и патофизиологии РАМН, г. Москва*

Активные формы кислорода оказывают выраженное влияние на сосудистый тонус в норме и при различных формах патологии, однако, механизмы такого влияния изучены пока ещё недостаточно [2]. Это влияние может быть опосредовано как через прямое действие активных форм кислорода на специфические молекулы-мишени, так и через изменение редокс-состояния клеток [1, 6]. Кроме того, активные формы кислорода и редокс-состояние клеток, вероятно, регулируют депонирование оксида азота в кровеносных сосудах. Известно, что при эндотоксическом шоке в кровеносных сосудах увеличивается образование оксида азота и активных форм кислорода [4]. В этих условиях может нарушаться редокс-состояние клеток кровеносных сосудов, приводя к изменению функционирования механизмов регуляции сосудистого тонуса, в том числе и NO-зависимых механизмов. N-ацетилцистеин - вещество, обладающее антиоксидантными свойствами и способностью вмешиваться в реакции обмена тиол-дисульфид [5], может оказывать выраженное влияние на редокс-состояние различных клеток. Использование этого вещества позволяет оценить важность нарушения редокс-регуляции клеток в изменении их функции.